

DR-34

**МУЛЬТИПЛЕКСНЫЙ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
ФИТОПАТОГЕНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ
С ПЕРОКСИДАЗА-ПОДОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

**В. Г. Панфёров¹, Ш. Разо¹, И. В. Сафенкова¹, Ю. А. Варицев², А. В. Жердев¹,
Б. Б. Дзантиев¹**

¹ Институт биохимии им. А. Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук.

119071 Москва, Ленинский пр-т, 33. E-mail: panferov-vg@mail.ru

² Федеральный исследовательский центр картофеля имени А. Г. Лорха.
140051, Московская область, г. Люберцы, д.п. Красково, ул. Лорха, 23.

Иммунохроматографический анализ (ИХА) основан на высокоспецифичном формировании комплексов при взаимодействии антител с антигенами, аффинном отделении комплексов при миграции пробы вдоль пористых мембран и их детекции. Благодаря простоте, экспрессности и низкой стоимости, ИХА широко используется в различных областях. Однако, несмотря на преимущества ИХА, высокий предел обнаружения и низкая производительность существенно ограничивают его практическое применение. В данной работе представлен высокочувствительный ИХА для детекции семи основных вирусных и бактериальных патогенов картофеля – X, Y вирусы картофеля, вирус скручивания листьев картофеля; *Ralstonia solanacearum*, *Dickeya solani*, *Clavibacter michiganensis*, *Pectobacterium atrosepticum*. Предложена новая архитектура ИХА, включающая центральную стекловолноконную зону для нанесения пробы с восьмью каналами, совмещенными с нитроцеллюлозными тест-полосками. Проба, нанесенная в центральную зону, под действием капиллярных сил мигрирует по тест-полоскам. Предложенная модификация упрощает тестирование и позволяет проводить ИХА семи патогенов в пробе. Для снижения предела обнаружения были использованы Au@Pt наночастицы, обладающие пероксидаза-подобной активностью. Снижение пределов обнаружения достигается посредством каталитической конверсии субстрата в нерастворимый продукт, преципитация которого на тест-полоске существенно увеличивает интенсивность окрашивания.

Наночастицы Au@Pt могут детектироваться на тест-полоске как по собственному окрашиванию, так и после каталитической реакции окисления 3,3-диаминобензидина в присутствии H₂O₂ и Ni²⁺. Предложенное усиление значительно увеличивает интенсивность колориметрического сигнала (рис. 1), что позволяет снизить пределы обнаружения ИХА (до 130 раз) и детектировать малые количества фитопатогенов (предел обнаружения составляет 30–480 пг/мл для вирусов и 500 – 10⁴ клеток/мл для бактерий).

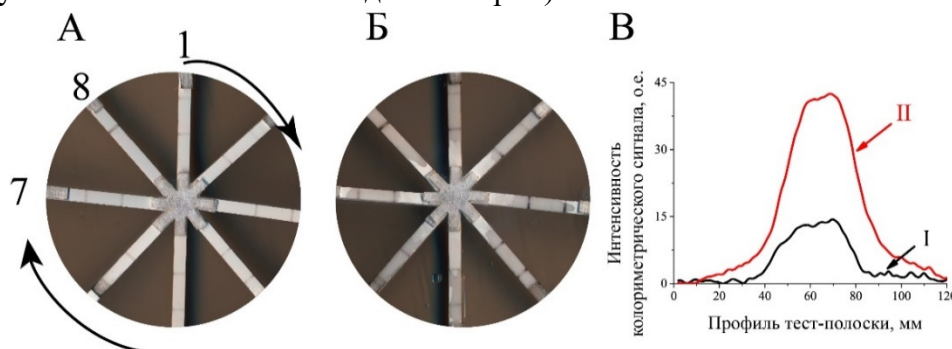


Рисунок 1 – Мультиплексный ИХА. Тест-системы до (А) и после усиления (Б). Тест-полоски 1–7 используются для детекции фитопатогенов; полоска 8 – отрицательный контроль. В – увеличение интенсивности окрашивания тест-полоски. I – до усиления; II – после усиления.

Малое время (15 мин), простота и высокая производительность делают разработанный ИХА перспективным для внелабораторного скрининга.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 16-16-04108).